



**ANTONIO RAMOS CALIXTO**

**“OBESIDADE CENTRAL E HIPERGLICEMIA INFLUÊNCIAM O  
AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DA ENZIMA  
DIPEPTIDIL PEPTIDASE 4 (DPP-4)”**

**CAMPINAS  
2012**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**

**ANTONIO RAMOS CALIXTO**

**“OBESIDADE CENTRAL E HIPERGLICEMIA INFLUÊNCIAM O  
AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DA ENZIMA  
DIPEPTIDIL PEPTIDASE 4 (DPP-4)”**

**Orientador(a): Prof. Dr. Bruno Geloneze Neto**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas para obtenção de título de Mestre em Clínica Médica, área de concentração Clínica Médica.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO/ TESE DEFENDIDA PELO ALUNO ANTONIO RAMOS CALIXTO E ORIENTADO PELO PROF. DR. BRUNO GELONEZE NETO.

Assinatura do Orientador

-----

**CAMPINAS**  
**2012**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR  
MARISTELLA SOARES DOS SANTOS – CRB8/8402  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
UNICAMP

C129o Calixto, Antonio Ramos, 1976-  
Obesidade central e hiperglicemia influenciam o aumento da concentração plasmática da enzima dipeptidil peptidase 4 (DPP-4) / Antonio Ramos Calixto. -- Campinas, SP : [s.n.], 2012.

Orientador : Bruno Geloneze Neto.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Resistência à insulina. 2. Diabetes Mellitus. 3. Obesidade abdominal. I. Geloneze Neto, Bruno. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em inglês:** Central obesity and hyperglycemia affect the increase of plasma concentrations of the DPP-4.

**Palavras-chave em inglês:**

Insulin resistance

Diabetes Mellitus

Obesity, Abdominal

**Área de concentração:** Clínica Médica

**Titulação:** Mestre em Clínica Médica

**Banca examinadora:**

Bruno Geloneze Neto [Orientador]

Gabriel Forato Anhô

Maria Cristina Foss de Freitas

**Data da defesa:** 30-08-2012

**Programa de Pós-Graduação:** Clínica Médica

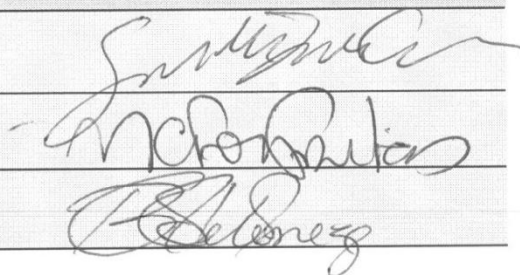
# Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

**Antonio Ramos Calixto**

Orientador: Prof. Dr. Bruno Geloneze Neto

## Membros:

1. Prof. Dr. Gabriel Forato Anhê
2. Profa. Dra. Maria Cristina Foss de Freitas
3. Prof. Dr. Bruno Geloneze Neto

Three handwritten signatures are visible on the right side of the page, corresponding to the members of the exam board listed on the left. The signatures are written in dark ink and are somewhat stylized.

Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 30/08/2012

## **Agradecimentos:**

Agradeço ao meu orientador, Professor Bruno Geloneze Neto, um entusiasta nato, pelos ensinamentos e apoio do começo ao fim. Um orientador que sabe o momento certo de um elogio e uma boa crítica, tão necessárias em nossa profissão.

A equipe Limed: Eleonora Comucci, Ana Carolina Vasques, Cleliani de Cassia, Daniella Regiani, Maria da Saúde Oliveira, Marcelo Lima, Christiane Stabe, Daniela Schiavo, Daniella Camilo, Daniela Tesoto, Liane Rocha, Thaís Souza, Mariana Ferrari, Patrícia Rodrigues, Fernanda Novaes, Ana Claudia Felici, Gisele Lambert, Sabrina Nagasaki, Fabiana Lopes, Luzia de Paula, Leandra Giorgetti, Franciele Barreiro, Fernanda Hirsch, que em diversas vezes foram meus “gigantes” compartilhando do seu conhecimento científico e técnico.

Agradeço ao biólogo Aglécio Luiz de Souza pela amizade e um dos responsáveis pelo meu ingresso na pesquisa científica.

À Pesquisadora Dra. Daniela Magro, pela ajuda e amizade.

À Capes, pela bolsa de estudos.

*“se vi o que vi é porque estava sobre os ombros de gigantes”.*

*Isaac Newton*

## RESUMO

*Objetivo:* O principal objetivo deste estudo foi avaliar as relações das concentrações enzimáticas da DPP-4 com adiposidade e o grau de tolerância à glicose.

*Métodos:* Foram avaliados 227 indivíduos (Mulheres: 64,8% Homens: 35,2%) de ambos os sexos, 73 indivíduos com DM2, com idade entre 18-80 anos e com IMC entre 18,5 a 47 kg/m<sup>2</sup>. Os indivíduos foram divididos em 4 grupos: Não Obesos Normoglicêmicos (nOb-NG), Não Obesos Hiperglicêmico (nOb-HG), Obesos Normoglicêmicos (Ob-NG) e Obesos Hiperglicêmicos (Ob-HG). Foram considerados obesos indivíduos com IMC>30 e hiperglicêmicos HbA1c >6,0.

*Resultados:* Observamos um aumento na concentração da DPP-4 no grupo de Ob-HG ( $p>0,05$ ), comparado à outros três grupos (nOb-NG, nOb-HG e Ob-NG); houve correlação positiva entre a concentração da DPP-4 e HbA1c ( $p>0,05$ ), nos grupos separados em: Não Obesos, Obesos, Normoglicêmicos e hiperglicêmicos; entre as mulheres, a concentração de DPP-4 teve correlação negativa ( $p<0,05$ ) com a circunferência do quadril e a circunferência da coxa em mulheres; correlação positiva ( $p<0,05$ ) com as razões pescoço/coxa e cintura/coxa; entre os homens a concentração da DPP-4 teve correlação negativa com a massa magra.

*Conclusões:* Pacientes obesos e com hiperglicemia apresentam a concentração da DPP-4 elevada, quando comparados com indivíduos normoglicêmicos magros ou obesos. Existe uma associação entre a distribuição centrípeta do tecido adiposo e o aumento da concentração da DPP-4, cuja causalidade não está caracterizada até o presente momento.

Nosso trabalho fornece bases fisiopatológicas para o tratamento do DM2 baseado na inibição da DPP-4 corroborando com os achados clínicos em ensaios randomizados e na prática clínica. De fato, as terapias baseadas em incretinas, em destaque para a inibição da DPP-4, tem se mostrado efetivas no tratamento do DM2.

## Abstract

*Objective:* the aim of this study was to evaluate the relationship between enzymatic concentrations of DPP-4 and the level of adiposity and glucose tolerance. *Methods:* we assessed 227 participants (women: 64,8% male: 35,2%) of both sexes, 73 subjects with T2DM, aged between 18 and 80 years, with BMI between 18,5 and 47 kg / m<sup>2</sup>. The subjects were divided into 4 groups: normoglycemic nonobese (NG-NOB), hyperglycemic nonobese (HG-NOB), normoglycemic obese (Ob-NG) and hyperglycemic obese (Ob-HG). Were considered obese subjects with BMI > 30 and hyperglycemic A1c > 6,0. *Results:* We reported an increased enzymatic concentration of DPP-4 in Ob-HG group ( $p > 0.05$ ) compared to the other three groups (NG-NOB, NOB and Ob-HG-NG); a positive correlation was found between concentration of DPP -4 and HbA1c ( $p > 0.05$ ) in groups: not obese, obese, normoglycemic and hyperglycemic; among women, the concentration of DPP-4 had a negative correlation ( $p < 0.05$ ) and hip and thigh circumferences; positive correlation ( $p < 0.05$ ) with neck-to-thigh and waist-to-thigh ratio; among men, the concentration of DPP-4 had a negative correlation with lean mass. *Conclusions:* obese patients with hyperglycemia have higher concentrations of DPP-4 compared with normoglycemic lean or obese individuals. There is an association between the centripetal distribution of body fat and increasing concentrations of DPP-4, whose mechanisms remain unclear. Our work provides pathophysiological bases for treatment of T2DM based on inhibition of DPP-4 confirming findings of randomized clinical trials and clinical practice. In fact, incretin-based therapies, in particular the inhibition of DPP-4, has proven effective in the treatment of T2DM.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES:

Figura 1. Ação do GLP-1 na Célula $\beta$ .....	29
Figura 2. Bioimpedância.....	38
Gráfico1. Concentração da DPP-4 nos grupos NOb-NG, NOb-HG, Ob-NG e Ob-HG.....	43
Gráfico 2. Correlações da concentração da DPP-4 com a circunferência do quadril em mulheres.....	46
Gráfico 3. Correlações da concentração da DPP-4 com a circunferência da coxa em mulheres.....	46
Gráfico 4. Correlações da concentração da DPP-4 com a relação pescoço/coxa em mulheres.....	47
Gráfico 5. Correlações da concentração da DPP-4 com a relação cintura/coxa em mulheres.....	47
Gráfico 6. Correlações da concentração da DPP-4 com o peso da massa magra em homens.....	48
Tabela 1. Caracterização dos grupos.....	41
Tabela 2. Caracterização da amostra.....	42
Tabela 3. Correlações com a concentração da DPP-4.....	45
Quadro1. Protocolo para realização do teste de bioimpedância.....	37
Quadro2. Comparação entre subgrupos de acordo com a presença de obesidade e ou hiperglicemia.....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS

ADA - Proteína de ligação adenosina diaminase

ALT - Alanina amino transferase

AMPc - Adenosina monofosfato cíclico

Anti-GAD - Anticorpo anti descarboxilase do ácido glutâmico

ARIC - *The Atherosclerosis Risk in Communities*

AST - Aspartato amino transferase

Ca - Calcio

CD26 - Dipeptidil peptidase-4

CD3 - *Cluster of differentiation 3*

CD4 - *Cluster of differentiation 4*

CD8 - *Cluster of differentiation 8*

CREB - *cAMP response element-binding*

DM2 - Diabetes Mellito 2

DPP-4 - Dipeptidil peptidase-4

ERK 1/2 - *extracellular-signal-regulated kinase 1/2*

GIP - *Glucose-dependent insulintropic peptide*

GIP-R - *Glucose-dependent insulintropic peptide receptor*

GLP-1 - *Glucagon like peptide-1*

GLP-1R - *Glucagon like peptide 1- receptor*

GLP-2 - *Glucagon like peptide 2*

GPCR - *G protein coupled receptors*

HbA1c - Hemoglobina Glicada

HOMA-IR - *Homeostatic model assessment- insulin resistance*

HPLC - *High-performance liquid chromatography*

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IL-2 - Interleucina-2

IMC -Índice de massa corporal

K<sup>+</sup> - Potássio

Kv - Voltagem dependente de potássio

MTT/TTA - do inglês *meal tolerance test*, em português teste de refeição padrão

nOb-HG - Não obeso hiperglicêmico

nOb-NG - Não obeso normoglicêmico

Ob-HG - Obeso hiperglicêmico

Ob-NG - Obeso normoGlicêmico

OMS - Organização Mundial de Saúde

PHA - Fitohemaglutinina

PI3K - *Phosphatidylinositol 3-kinase*

RBP-4 - *Retinol binding protein-4*

RI - Resistência à insulina

RNA<sub>m</sub> - *Messenger ribonucleic acid*

SNC - Sistema nervoso central

Th1 - *T-Helper-1*

TNF $\alpha$  - *Tumor necrosis factor  $\alpha$*

TORC2 - *Target of rapamycin complex 2*

TTOG - Teste de tolerância oral à glicose

## SUMÁRIO

<b>1.0</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
1.1	Diabetes Mellitus tipo 2.....	17
1.2	Associação entre obesidade e diabetes tipo 2 (“Diabesidade”) .....	18
1.3	Os hábitos de vida e suas relações com a fisiopatologia do diabetes tipo 2 .....	22
1.4	Efeito incretina .....	23
1.5	Glucose-dependent insulintropic peptide (GIP) .....	23
1.6	Receptor do GIP .....	24
1.7	Glucagon- like peptide (GLP-1).....	25
1.8	Receptor do GLP-1 .....	27
1.9	Regulação da secreção de insulina e glucagon mediado pelo GLP-1.....	29
1.10	Dipeptidil-peptidase 4 (DPP-4).....	30
1.11	Atividade da DPP-4 e Obesidade.....	31
1.12	Atividade da DPP-4, hemoglobina glicada (HbA1c) e metabolismo de carboidratos .....	32
1.13	Inibidores da DPP-4.....	33
<b>2.0</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>34</b>
<b>3.0</b>	<b>OBJETIVO.....</b>	<b>34</b>
<b>4.0</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
4.1	Delineamento e local de estudo.....	34
4.2	Aspectos Operacionais.....	35
4.3	Seleção da Amostra: critérios de inclusão e exclusão.....	35
4.4	Anamnese .....	36
4.5	Avaliação Antropométrica e da Composição Corporal .....	36
4.6	Índices para avaliação da resistência à insulina .....	38
4.7	Dosagens bioquímicas.....	38
4.8	Análises estatísticas .....	40
<b>5.0</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>41</b>

<b>5.1 Caracterização dos grupos .....</b>	<b>41</b>
<b>Tabela1 .....</b>	<b>41</b>
<b>5.2 Caracterização da amostra.....</b>	<b>42</b>
<b>5.3 Avaliação da concentração da DPP-4 entre grupos de não Obesos normoglicêmicos, não Obesos hiperglicêmicos, Obesos normoglicêmicos e Obesos hiperglicêmicos .....</b>	<b>42</b>
<b>5.4 Correlações com a concentração da DPP-4 e a hiperglicemia constante ...</b>	<b>44</b>
<b>5.5 Correlações da concentração da DPP-4 vs. dados antropométricos realizados em homens e Mulheres .....</b>	<b>45</b>
<b>6.0 DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>7.0 CONCLUSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>51</b>

## 1.0 INTRODUÇÃO

A obesidade é definida pela organização mundial de Saúde (OMS) como excesso de gordura corporal com implicações negativas para a saúde, e representada pelo índice de massa corpórea (IMC: peso em quilogramas dividido pelo quadrado da altura em metros) maior ou igual a  $30 \text{ kg/m}^2$ . Ainda segundo a OMS, há 500 milhões de obesos no mundo e a obesidade representa um dos dez principais problemas de saúde pública mundiais, sendo classificada como epidemia (1). Segundo o IBGE, em pesquisa feita em 2008 e 2009, no Brasil a obesidade atinge 12,4 % dos homens e 16,9 % das mulheres com mais de 20 anos, 4,0 % dos homens e 5,9 % das mulheres entre 10 e 19 anos e 16,6 % dos meninos e 11,8 % das meninas entre 5 e 9 anos (2). A prevalência da obesidade está crescendo no Brasil, principalmente na população com baixo nível sócio-econômico (3).

A principal causa da obesidade é o desequilíbrio entre a ingestão de nutrientes e o gasto calórico (1). O desequilíbrio energético pode ser entendido como o resultado da interação de um ou mais dos seguintes fatores: aumento da ingestão alimentar, diminuição do gasto energético, aumento da capacidade de estocar gordura e diminuição na capacidade de estocar gordura. Cada um desses fatores por sua vez tem múltiplas causas, tais como: ambientais, nutricionais, genéticas e comportamentais (4).

Quanto à intensidade, a OMS define obesidade grau I quando o IMC situa-se entre 30 e  $34,9 \text{ Kg/m}^2$ , obesidade grau II quando o IMC está entre 35 e  $39,9$

Kg/m<sup>2</sup> e, por fim, obesidade grau III ou mórbida quando o IMC ultrapassa 40 Kg/m<sup>2</sup> (1). Nos EUA, a prevalência de obesidade grau III é de aproximadamente 4,7 % (5). No Brasil, estes dados ainda não são definidos, porém estima-se que sejam em torno de 0,5 – 1 % da população adulta (6). Em pesquisa realizada em 1994, estimou-se que 0,3% da população brasileira é obesa grau III, ou seja, cerca de 500.000 pessoas (7). A obesidade grau III está entre as principais causas de óbitos no mundo. Estima-se que os obesos mórbidos (IMC≥40 Kg/m<sup>2</sup>) apresentam uma mortalidade até 12 vezes maior que indivíduos não obesos em homens na faixa etária de 25 a 34 anos, e seis vezes maior na faixa etária de 35 a 44 anos(8).

### **1.1 Diabetes Mellitus tipo 2**

O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é considerado uma das grandes epidemias mundiais deste século e também um problema de saúde pública, tanto nos países desenvolvidos como em desenvolvimento. Temos como responsáveis pelo aumento da incidência e prevalência do DM2, o envelhecimento populacional e fatores ambientais: falta de exercícios físicos, hábitos alimentares que predispõem ao acúmulo de gordura corporal.

O DM2 é caracterizado por resistência à insulina (RI), que representa uma alteração metabólica de etiologia genética e ambiental, caracterizada por resposta anormal dos tecidos periféricos à ação da insulina circulante, (9) deficiência de insulina relativa ou absoluta, hiperglucagonemia, aumento da produção hepática de glicose e, freqüentemente, esvaziamento gástrico rápido e obesidade. Os efeitos do hormônio incretina *glucagon-like-peptide-1* (GLP-1) sobre os defeitos



metabólicos do DM2 formaram a base para o seu uso terapêutico no DM2, incluindo estimulação da secreção de insulina e inibição da secreção de glucagon e produção hepática de glicose, redução do esvaziamento gástrico e modulação do apetite. Além disso, o GLP-1 parece exercer efeitos tróficos sobre a célula-beta. Os inibidores da dipeptidil peptidase 4 (DPP-4) representam uma nova classe de agentes anti-hiperglicemiantes orais para o tratamento do DM2, baseada na habilidade de aumentar os níveis intactos dos peptídeos incretinas, incluindo GLP-1 e GIP.

A realização de novas pesquisas para entendermos melhor como funciona este mecanismo complexo, resistência à insulina e DM2, é extremamente importante para o seu tratamento.

## **1.2 Associação entre obesidade e diabetes tipo 2 (“Diabesidade”)**

O DM2 é uma síndrome clínica com expressão fenotípica variável, considerada uma doença poligênica modulada pelo meio ambiente. Sua fisiopatologia envolve uma combinação variável de resistência à insulina, principalmente no fígado e músculo e diminuição na secreção da insulina, sendo que ambas as situações podem ser influenciadas por fatores genéticos e ambientais. Além disto, outras alterações se relacionam com a fisiopatologia do DM2, dentre elas a desregulação da secreção hormonal nos eixos êntero-hipotalâmico e êntero-insular como a hipersecreção de glucagon, redução da secreção de GLP-1 e resistência à ação GIP, refletindo a natureza multifatorial da doença (10).

Alguns mecanismos estão relacionados à resistência à insulina, obesidade e predisposição ao DM2, tais quais: o aumento da produção de adipocinas como fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), resistina e proteína ligante do retinol-4 (RBP-4), a diminuição dos níveis de adiponectina, da deposição ectópica de gordura e a disfunção mitocondrial que pode levar ao comprometimento da célula  $\beta$  pancreática (11).

Estudos populacionais mostram que a obesidade é o mais importante fator de risco ambiental para o desenvolvimento do DM2. O estudo das enfermeiras dos Estados Unidos (*Nurses' Health Study*) baseado no seguimento de 84 mil mulheres durante 16 anos, demonstrou que a obesidade foi o principal preditor do aparecimento do DM2. Neste estudo o risco de desenvolver DM2 foi 20 vezes maior entre o IMC de 30-34,9 Kg/m<sup>2</sup> e 38 vezes maior quando o IMC era maior que 35 (12). Estudos mais recentes estimam que um aumento de 4,5 a 9% no risco de DM2 para cada 1 Kg de peso adicional. Outros dados como: ganho de peso na vida adulta e duração da obesidade também influenciam o desenvolvimento do DM2.

Além da quantidade de gordura, a sua distribuição desempenha um papel essencial sobre a ação da insulina. Pessoas obesas com acúmulo troncular da gordura (obesidade andróide) são mais resistentes à insulina, hiperinsulinêmicas e dislipidêmicas em comparação com pessoas com distribuição na parte inferior do corpo (obesidade ginecóide). A primeira referência ao termo andróide para a distribuição da gordura, em oposição ao termo ginóide, foi estabelecido por Jean Vague em 1947 demonstrando a associação entre esta e o aumento de risco para certas doenças crônicas como: DM2, aterosclerose e gota. O entendimento das

bases metabólicas da distribuição central da gordura foi reforçado pelos estudos com tomografia computadorizada, ressonância magnética e ultrassom demonstrando uma associação entre a gordura central e o acúmulo de gordura nos depósitos intra-abdominais (13).

Medidas antropométricas, como as circunferências, os diâmetros corporais, o peso, a estatura e os índices resultantes da combinação de duas ou mais medidas, são indicadores do estado nutricional, apresentam baixo custo, inocuidade, simplicidade em sua execução e têm servido como indicadores da obesidade (14). Nos últimos anos, a associação entre determinadas medidas antropométricas e a quantidade de gordura visceral aliada ao risco para o desenvolvimento de alterações metabólicas como a RI, tem sido vastamente explorada. As correlações encontradas destacam as medidas e os índices antropométricos como indicadores não invasivos para a avaliação do risco desta alteração metabólica na população, envolvendo menor custo e maior praticidade de aplicação tanto na pesquisa epidemiológica como na prática clínica. Os índices antropométricos podem ser classificados segundo o tipo de obesidade avaliada (15). Entre as medidas isoladas, ou combinadas, utilizadas para avaliar a obesidade central estão a circunferência da cintura, o diâmetro abdominal sagital e a relação cintura/estatura. A distribuição da gordura corporal tem sido avaliada pela relação cintura/quadril e pela relação cintura/coxa. Para a obesidade generalizada, o mais utilizado tem sido o índice de massa corporal.

A observação da ligação entre gordura visceral e RI não significa que haja uma relação causal entre as mesmas. A natureza desta ligação não está estabelecida. A teoria portal, baseada no aumento de liberação de ácidos graxos livres na

circulação portal não foi confirmada *in vivo*. Uma hipótese seria a capacidade da gordura visceral de modular o comportamento biológico dos tecidos subcutâneos, normalmente muito mais relevantes em termos quantitativos. A secreção de alguma substância pelo tecido visceral poderia alterar a produção de hormônios e citocinas pelo tecido subcutâneo determinando a presença de RI sistêmica (16).

O mecanismo, ou mecanismos, que provocam o desenvolvimento do DM2 em indivíduos obesos susceptíveis ainda não foram totalmente esclarecidos. A obesidade está associada a um aumento na RI, e esta *per si* é um fator predisponente para o DM2. Uma das teorias para esta ligação seria uma exaustão da célula-beta pancreática em produzir quantidades crescentes de insulina para vencer a RI característica da obesidade. Nos casos em que a RI está presente em concomitância a normo-tolerância à glicose, observa-se uma capacidade de produção de célula-beta aumentada. Neste caso, a hiperinsulinemia pode ser classificada como compensatória (17). As adipocitocinas, tais como: fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), resistina, interleucinas, ácidos graxos livres que são expressos e secretados pelo tecido adiposo, exercem um importante papel na gênese da RI e do DM2. A adiponectina, um hormônio secretado pelo tecido adiposo, com ação sensibilizadora para a insulina, e, portanto anti-diabetogênica, está reduzida na obesidade e deve estar implicada no desenvolvimento do DM2 (18,19).

### **1.3 Os hábitos de vida e suas relações com a fisiopatologia do diabetes tipo**

#### **2**

A prevalência da obesidade e DM2 em várias regiões do mundo vêm se tornando um dos mais importantes fenômenos clínico-epidemiológicos da atualidade. A herança genética é um fator muito importante na gênese dessas duas doenças, mas o aumento alarmante de ambas nos últimos tempos não ocorreu por mudanças genéticas importantes, mas sobre grandes modificações nos hábitos de vida da população (20,21).

A redução natural no gasto energético é observada com a modernização, ocasionando estilo de vida mais sedentário com transporte motorizado e equipamentos mecanizados, que diminuem o esforço físico de homens e mulheres tanto no trabalho como em casa. Em paralelo, tem sido demonstrado que a prática regular de atividade física em diferentes níveis de intensidade, inclusive baixa intensidade, apresenta efeitos benéficos na prevenção e no tratamento da hipertensão arterial, RI, DM2, dislipidemia e obesidade (22,23,24).

Devido às exigências e oportunidades da sociedade moderna observou-se também uma redução no tempo de sono, e esta redução pode modificar o padrão endócrino que sinaliza fome e saciedade, o balanço energético e o metabolismo de glicose. A restrição de sono pode também afetar fatores exógenos como a escolha do tipo de alimento que normalmente é mais calórico, e o aumento do

tempo disponível para a alimentação. Dessa forma, um tempo adequado de sono parece ser essencial para a manutenção do estado nutricional (25,26).

#### **1.4 Efeito incretina**

A ingestão de glicose enteral potencializa a secreção de insulina, obtendo uma resposta de maior magnitude se comparado à mesma concentração de glicose plasmática quando administrada por via parenteral. Este é o conceito do efeito incretina ( 27).

#### **1.5 Glucose-dependent insulintropic peptide (GIP)**

O primeiro hormônio incretínico descrito foi o *Glucose-dependent insulintropic peptide* (GIP), um peptídeo com 42 aminoácidos sintetizado e secretado pelas células K<sup>+</sup> do sistema endócrino, localizadas no intestino delgado (28). Em jejum, níveis circulantes de GIP são baixos em relação a níveis atingidos depois da ingestão. A liberação de GIP ocorre na corrente sanguínea que é estimulada pela ingestão de alimentos contendo glicose ou gordura (29,30,31). A ingestão de gordura Oral isoladamente, sem qualquer carboidrato presente induz a secreção de GIP, mas isto não é suficiente para estimular a secreção de insulina como em concentrações de glicose em jejum, indicando que os efeitos do GIP sobre a liberação de insulina não ocorrem se os níveis plasmáticos de glicose não aumentarem simultaneamente; isto é, GIP é um mediador da secreção de insulina

dependente de glicose (32,28). O GIP atinge seus efeitos insulínótropicos por ligação ao seu receptor específico (GIP-R). Além do efeito insulínótropico, também está envolvido no metabolismo da gordura em adipócitos, promovendo a absorção de lipídios através da ativação da lipoproteína Lipase, modula a síntese dos ácidos graxos, promove a proliferação e sobrevivência das células  $\beta$  (28) e exerce um número de ações extra - pancreáticas no cérebro, ossos e glândula adrenal encontrados em estudos pré-clínicos.(27).

### **1.6 Receptor do GIP**

O receptor do GIP (GIP-R) é membro da família de classe B dos receptores acoplados à proteína G (GPCR). A ativação destes receptores aumentam a produção intracelular de Adenosina monofosfato cíclico (AMPC) e  $\text{Ca}^{2+}$  nas células. Estes receptores são largamente expressados fora do pâncreas, incluindo o trato gastro-intestinal, tecido adiposo, coração, hipófise, córtex adrenal e em várias regiões do sistema nervoso central (SNC) (28).

O GIP é degradado rapidamente pela DPP-4. No DM2 suas concentrações plasmáticas possuem níveis normais ou aumentadas (33), porém o efeito insulínótropico está deficiente. O mecanismo pelo qual a resposta da célula  $\beta$  está parcialmente bloqueado ao estímulo do GIP, ainda é desconhecido. Contudo, estudos recentes sugerem que a hiperglicemia altera a resposta fisiológica de uma regulação minimizada da expressão e atividade do GIP-R (34).

### 1.7 Glucagon- like peptide (GLP-1)

O *glucagon-like peptide – 1* (GLP –1) é um produto do gene do pré-pró-glucagon, expresso no sistema nervoso central e nas células L do intestino delgado, é rapidamente secretado após alimentação, de maneira proporcional à ingestão calórica (35). O GLP-1 é principalmente secretado na forma GLP-1 (7-36)NH<sub>2</sub>, enquanto o restante é secretado como GLP-1 (7-37), ambos bioativos, interagem com receptores específicos nas células  $\beta$  pancreáticas, trato gastrointestinal e sistema nervoso central. O GLP-1 circulante (meia vida de 2 min) é rapidamente clivado pela enzima Dipeptidil-peptidase 4 (DPP-4) em GLP-1 (9-36)NH<sub>2</sub>, supostamente inativo e cuja depuração é mais demorada que a degradação do GLP-1 (7-36)NH<sub>2</sub>, sendo portanto a forma mais presente no plasma no estado pós prandial (36). É amplamente expressado em órgãos e tecidos de mamíferos. É encontrada no cortex renal, em microvilosidades renais e do duodeno, fígado, pâncreas, glândula submaxilar e placenta. Comparações da atividade da DPP-4 em intestino humano revelaram que sua atividade foi maior no íleo e no jejuno, baixa no duodeno e não detectável no cólon. O rim é o órgão com a maior atividade específica, localizado primariamente no córtex e nas membranas em borda de escova. Este peptídeo tem efeito sacietógeno e possivelmente influencia o peso corpóreo á longo prazo (37). Evidências sugerem que a secreção e a resposta ao estímulo alimentar de GLP-1 estão reduzidas em obesos (38) e que a perda de peso normaliza estes níveis (37). Além do papel no controle da fome, o GLP-1 também aumenta a secreção de insulina, dependente de glicose, por estimular a expressão do gene da insulina e por potencializar todos os



passos da biossíntese, além do seu efeito anti-apoptótico sobre as células beta. Há ainda redução da motilidade gástrica, da secreção ácido-gástrica e da secreção de glucagon. (35,36,37).

Em dois estudos, um com indivíduos insulino-resistentes não diabéticos (38) e outro com diabéticos (39), não houve aumento do GLP-1 após o estímulo de uma refeição mista, sendo que a magnitude do defeito mostrou-se ligada ao grau de resistência à insulina. Uma das explicações para essa redução na secreção de GLP-1 pode ser a lentificação do esvaziamento gástrico, alteração da absorção no intestino proximal, que influencia a chegada do alimento ao intestino distal, onde é produzido. Um autor demonstrou maior elevação das incretinas (GIP e GLP-1), em diabéticos tipo 1 e 2, em magros e obesos não diabéticos, frente a um estímulo alimentar maior (520 Kcal) versus um estímulo menor (260 Kcal) (40). Já a ação do GLP-1 está preservada nos indivíduos diabéticos, pois há normalização da hiperglicemia de jejum quando este peptídeo é infundido (41). A capacidade do GLP-1 de atuar como fator de crescimento, estimulando a formação de novas células pancreáticas e diminuindo a velocidade de morte (apoptose) destas células.

Os efeitos glucorregulatórios das incretinas são a base para as novas terapias atualmente desenvolvidas para o tratamento da DM2. Os inibidores da DPP-4 são uma nova classe de drogas antidiabéticas que tem eficácia comparável às drogas atualmente utilizadas (35). Eles são efetivos como monoterapia em pacientes com controle inadequado em relação à dieta e exercício, assim como em terapia combinada a metformina, tiazolidinedionas e insulina. Os inibidores da DPP-4 são bem tolerados, possuem baixo risco de causar hipoglicemia e são neutros em

relação ao peso. A duração do efeito, à longo prazo, sobre o controle glicêmico e a morfologia e função da célula-beta ainda permanecem em questão (36).

Baseado na fisiologia do GLP-1, novos tratamentos para diabetes tipo 2 vêm sendo explorados. No entanto, o problema é que o GLP-1 é rapidamente inativado pela enzima DPP-4, o que resulta numa meia-vida de curta duração do GLP-1 (< 2 min). Duas estratégias têm sido empregadas para superar esse obstáculo (39). Uma delas é utilizar agonistas do receptor de GLP-1 que tenham uma meia-vida prolongada para diminuir a degradação do hormônio pela DPP-4. Outra estratégia é inibir a enzima DPP-4, o que prolonga a meia-vida do GLP-1 ativo liberado endógenamente (37).

### **1.8 Receptor do GLP-1**

O receptor do GLP-1 (GLP1-R), de considerável homologia a aminoácidos para a família de classe B, acopladores de proteína G (GPCR), que sinaliza a maioria das ações do GLP-1 em vivo e possui uma alta especificidade aos receptores GLP1R até agora identificados (35). O GLP-1, GLP-2 e glucagon, resultado de modificações pós-translacionais do proglucagon, molécula codificada por um gene, possuem receptores únicos e são altamente específicos, sem relevante reactividade cruzada, a receptores para os outros dois péptidos. O glucagon, por exemplo, liga-se ao GLP-1R com 100 a 1000 vezes menos afinidade do que o GLP-1(27).

A ativação do GLP-1R estimula a formação de AMPc e ativação de vias dependentes, acopladores de proteína quinase A e fatores de troca de

nucleotídeos guanina, regulados por AMPc (42). Ficou provado que agonistas do GLP-1R promovem a fosforilação de fatores de transcrição como a proteína de ligação ao elemento de resposta do AMPc (CREB), podendo também regular esta atividade através de estimulação dependente de glicose ou através da translocação da TORC2, um co-ativador das proteínas CREB, do citoplasma para o núcleo. A ativação do GLP-1R também está associado a um aumento intracelular de cálcio, inibição de correntes de voltagem-dependente  $K^+$  (Kv) e de ativação da expressão do genica, através dos efeitos sobre ERK1 / 2, proteína quinase C, e PI3K. (27).

O GLP-1R foi originalmente identificado em ilhotas de células  $\beta$ , mas é amplamente expressos em tecidos extra pancreáticos, incluindo o pulmão, rim, SNC, sistema nervoso periférico, linfócitos, vasos sanguíneos e coração (35,36). Ações múltiplas de GLP-1 estão sendo relatados em estruturas agonistas dos receptores GLP1R em células e tecidos que não expressam o clássico GLP-1R, confirmando a importância de trabalhos que analisam os mecanismos e caminhos capaz de traduzir ações do GLP-1 independente do conhecido GLP-1R.

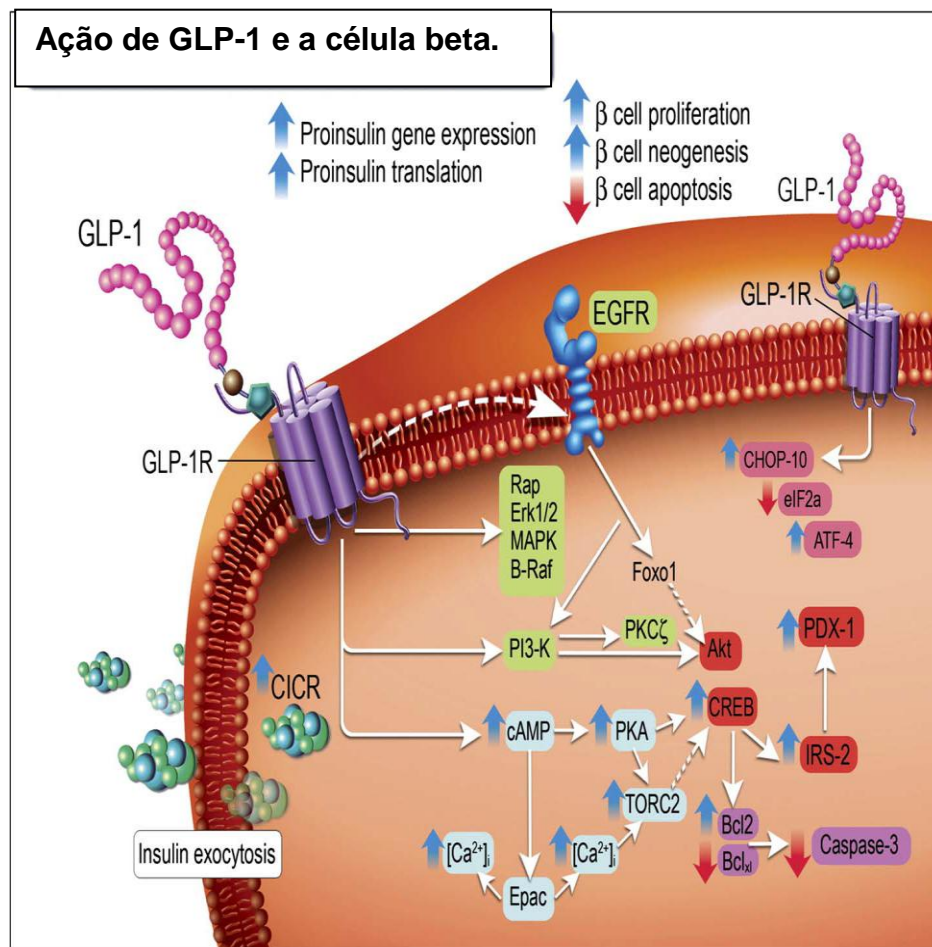


Figura1. Adaptado de Drucker 2006

### 1.9 Regulação da secreção de insulina e glucagon mediado pelo GLP-1

O GLP-1 potencializa diretamente a secreção de insulina em uma ação de forma glicose dependente, minimizando o risco de hipoglicemia em indivíduos diabéticos tratados com agonistas do GLP-1R. O GLP-1 também induz uma resposta das células  $\beta$  à ação da glicose (43) melhorando rapidamente sensibilidade das células  $\beta$  à glicose, restaurando assim a secreção de insulina em direção a níveis normais em pacientes humanos com DM2 (44). O GLP-1 também inibe a secreção de glucagon através de uma ação dependente de glicose (45).

Devido a maioria das células  $\alpha$  não expressarem o GLP-1R, o GLP-1 inibe a secreção de glucagon, mesmo em indivíduos com diabetes tipo 1, com baixos níveis de peptideo C. Os efeitos do GLP-1 sobre o glucagon são provavelmente indirecta, mediada através de uma ação dependente de somatostatina.

### **1.10 Dipeptidil-peptidase 4 (DPP-4)**

A enzima Dipeptidil peptidase 4 (DPP-4) também conhecida como CD26 ou ADA (proteína de ligação adenosina diaminase), é uma glicoproteína multifuncional tipo 2, encontrada nas formas solúvel e transmembrana. É codificada pelo gene CD26, que sintetiza uma proteína de 766 aminoácidos (110 KDa), a qual está ancorada à bicamada lipídica da célula por uma hélice hidrofóbica única de 23 aminoácidos localizados na região N-terminal da molécula, e uma pequena cauda na região citoplasmática de 6 aminoácidos, sendo uma exopeptidase que cliva aminoácidos prolina e alanina, na penúltima posição na região N-terminal de polipeptídeos (46).

Na forma transmembrana, é expressada como um homodímero na superfície de várias células epitelial, endotelial e linfoides. A forma solúvel da DPP-4 ou CD26, não possui a região citosólica e a de ancoragem na membrana plasmática. É encontrada em altas concentrações em fluídos seminais, níveis regulares em plasma e baixos níveis em fluidos cerebrospinal. Existem relatos de atividades semelhantes a da DPP-4 em soro humano, porém, correspondem à apenas 5% do total. Os outros 95% correspondem atividade da DPP-4 associada à ADA, o que a caracteriza semelhante a tecidual.(47). A DPP-4 é expressa por

células T, CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup>, em níveis basais detectáveis , quando em repouso. Sua expressão, na forma transmembrana, é aumentada de 5 a 10 vezes com o estímulo de certos antígenos como: anti- CD3 (interleucina (IL-2), ou mitogênicos, tais como fitohemaglutinina (PHA). Em células T CD4<sup>+</sup>, a expressão de CD26 é induzida por estímulos que favorecem o desenvolvimento de respostas Th1 (48).

### **1.11 Atividade da DPP-4 e Obesidade**

A atividade da DPP-4 relacionada com obesidade foi avaliada em um estudo transversal, onde vinte e dois (22) voluntários (IMC: 47.6 ±8 Kg/m<sup>2</sup>; idade: 35±10 anos) foram submetidos à cirurgia de derivação biliopancreática em obesos grau III pareados com nove voluntários com peso normal. Os pacientes foram submetidos a teste de TTOG (teste de tolerância oral a glicose) e TTA (teste de tolerância alimentar (MTT)), antes e após 10 meses de intervenção cirúrgica. Os achados deste grupo reporta que inativação acelerada de GLP1 em pacientes obesos está associada, parcialmente, por conta dos baixos níveis plasmáticos em relação aos encontrados em pacientes saudáveis.

A concentração de DPP-4 aparentemente não está relacionada pelo grau excesso de peso do voluntário e o aumento dos níveis de GLP-1 nos pós-operados ocorre principalmente devido à hiperestimulação das células secretoras de GLP-1, após a manipulação cirúrgica do tracto gastrointestinal e não a uma diminuição da concentração da DPP-4 (49).

### **1.12 Atividade da DPP-4, hemoglobina glicada (HbA1c) e metabolismo de carboidratos**

O aumento da concentração da DPP-4 e sua atividade no estado de hiperglicemia constante foram relatados em um estudo realizado com cultura de células endoteliais glomerular de humanos, onde após duas semanas de tratamento, com exposição de 22 mmol/l de glicose, houve um aumento na expressão do RNAm e da atividade da DPP-4. Observaram também, um efeito dose-dependente, ou seja, esses aumentos respondem a um estímulo da concentração de glicose (50). Outro trabalho realizado por este mesmo grupo, onde avaliaram pacientes DM2, hiperglicemicos e normoglicemicos, submetidos a um teste de TTOG, observaram que não houve diferença na atividade da DPP-4 entre os grupos. Porém, houve diferença significativa na concentração do GLP-1 (51).

Um estudo realizado (52) em humanos onde avaliaram a atividade da DPP-4 após um teste de tolerância alimentar, não encontrou diferença na atividade enzimática. Ou seja, a atividade não responde a um estímulo alimentar agudo. Por outro lado, houve uma correlação significativa entre a HbA1c e a atividade da DPP-4. Outro achado importante, relatado pelo ARIC (*The Atherosclerosis Risk in Communities*) study, que avaliaram 546 indivíduos, de meia idade, que desenvolveram diabetes e 538 sem DM2, durante 9 anos, é que não há correlação da concentração da DPP-4, no estado de jejum, com biomarcadores inflamatórios, metabólicos ou variáveis antropométricas. Os níveis da DPP-4 estavam próximos do grupo que não desenvolveu DM2, concluindo que os níveis basais da DPP-4 não predizem a incidência do DM2 (55).

### **1.13 Inibidores da DPP-4**

As terapias baseadas nas incretinas GLP1 e GIP, que incluem os agonistas dos GLP-1R e inibidores da DPP-4, produzem uma potencialização das incretinas ou de seus receptores e consequentemente uma melhora na produção da insulina, diminuição da produção do Glucagon, esvaziamento gástrico e supressão da ingestão. Os inibidores da DPP-4 reduzem a clivagem das incretinas GLP1 e GIP, aumentando de 2 a 3 vezes os níveis de sua concentração no plasma, são administrados como comprimidos orais, podendo ser utilizados no início do tratamento e como terapia de primeira linha em pacientes, que não podem tolerar ou onde o tratamento com metformina é contra-indicado. Um inibidor DPP-4 também pode ser adicionado em pacientes já tratados com um ou mais agentes antidiabéticos orais.

Os inibidores da DPP-4 reduzem HbA1c comparável com outros agentes antidiabéticos orais, porém, tratamentos longos com agonistas do receptor de GLP-1 são mais eficazes em reduzir HbA1 (56).



## **2.0 JUSTIFICATIVA**

A fisiopatologia do DM2 apresenta características especiais não totalmente conhecidas em relação a atividade de incretinas e DPP-4. Ainda não está claro a ação e inativação das incretinas no mecanismo de sinalização que relaciona resistência à insulina e DM2. Possivelmente ocorrem alterações no gene da glucoquinase que representa o sensor de glicose na célula beta. No entanto, mais estudos são necessários para se determinar as alterações patológicas relacionadas à resistência insulínica, adiposopatia, incretinopatia, falência pancreática e alterações moleculares em pacientes com diabetes tipo 2.

## **3.0 OBJETIVO**

Avaliar as relações das concentrações enzimáticas da DPP-4 com adiposidade, variáveis antropométricas e grau de tolerância à glicose.

## **4.0 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Delineamento e local de estudo**

Estudo epidemiológico transversal realizado no Laboratório de Investigação em Metabolismo e Diabetes – LIMED/UNICAMP. O protocolo foi aprovado pelo

comitê de ética de Pesquisa desta Universidade. Todos os participantes forneceram termo de consentimento livre e esclarecido antes da participação.

#### **4.2 Aspectos Operacionais**

Os voluntários foram avaliados e responderam a questionários padronizados utilizados em todos os centros onde o estudo foi realizado. Os exames clínicos foram realizados por profissionais treinados, colaboradores do estudo.

#### **4.3 Seleção da Amostra: critérios de inclusão e exclusão**

Foram avaliados 227 indivíduos (Mulheres: 64,8% Homens: 35,2%) de ambos os sexos, 73 indivíduos com DM2, com idade entre 18-80 anos e com IMC entre 18,5 a 47 kg/m<sup>2</sup>. Os indivíduos foram divididos em 4 grupos: Não Obesos Normoglicêmicos (nOb-NG), Não Obesos Hiperglicêmico (nOb-HG), Obesos Normoglicêmicos (Ob-NG) e Obesos Hiperglicêmicos (Ob-HG). Foram considerados obesos indivíduos com IMC>30 e hiperglicêmicos HbA1c >6,0.

Não foram incluídos pacientes portadores de diabetes tipo 1, pacientes diabéticos em uso de insulina, pacientes em uso de glicocorticóides via oral ou injetável por 14 dias consecutivos nos últimos 3 meses; pacientes com alteração da função renal (creatinina > 1,4 mg/dl em mulheres e > 1,5 mg/dl em homens); da

função hepática: AST e ALT 3 vezes acima do normal e com doença sistêmica grave (neoplasia, insuficiência cardíaca, etc).

#### **4.4 Anamnese**

Foram coletados dados sociodemográficos, dados referentes ao estilo de vida, à história médica pregressa e aos antecedentes familiares de doenças de interesse: obesidade, diabetes tipo 2, hipertensão arterial. Também foi caracterizado o uso de medicamentos.

#### **4.5 Avaliação Antropométrica e da Composição Corporal**

Foram avaliados o peso e a estatura segundo as normas propostas por Jelliffe (57). Foram medidas de altura, peso e circunferências corporais. Posteriormente foram realizados os cálculos para índice de massa corporal (IMC) correspondendo à divisão do peso (kg) pela altura (m), elevada ao quadrado.

As circunferências foram aferidas com fita métrica, sem haver compressão dos tecidos. O indivíduo permaneceu em pé, parado, com os músculos abdominais relaxados e com o peso corporal distribuído igualmente nos dois pés, separados aproximadamente em 30 cm (58,59).

- Circunferência do pescoço: foi aferida na base do pescoço, abaixo da cartilagem crico-tireóidea. A leitura da circunferência foi realizada na parte anterior sobre a clavícula, na extremidade external.

- Circunferência da cintura: foi medida preferencialmente no ponto médio entre a crista ilíaca e a última costela. Os locais anatômicos foram localizados por apalpação e marcados com caneta dermatográfica. Em indivíduos muito obesos, a medida foi realizada ao nível umbilical (58).

- Circunferência do quadril: foi aferida ao nível da sínfise púbica, com a fita circundando o quadril na parte mais saliente entre a cintura e a coxa (58).

- Circunferência da coxa: foi aferida no lado direito do corpo, no ponto médio entre a dobra inguinal e a borda proximal da patela, com a fita posicionada perpendicularmente ao eixo vertical. O indivíduo permaneceu em pé e com a perna direita ligeiramente flexionada (60).

A composição corporal foi avaliada pelo teste de bioimpedância tetrapolar (Figura 2). Cada voluntário foi orientado a seguir o protocolo específico (Quadro 2):

**Quadro 1** – Protocolo para a realização do teste de bioimpedância

<b>Recomendações</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Não fazer uso de nenhum diurético nos 7 dias que antecedem o teste;</li><li>• Não consumir bebidas alcoólicas nas 48 horas anteriores ao teste;</li><li>• Não realizar atividade física extenuante nas 24 horas anteriores ao teste;</li><li>• Estar em jejum de alimentos, bebidas e água por 4 horas antes do teste;</li><li>• Urinar pelo menos 30 minutos antes da realização do teste;</li><li>• Permanecer 5 minutos deitado, em decúbito dorsal, antes da execução do teste.</li></ul>

Fonte: Lukaski (1986) (61)

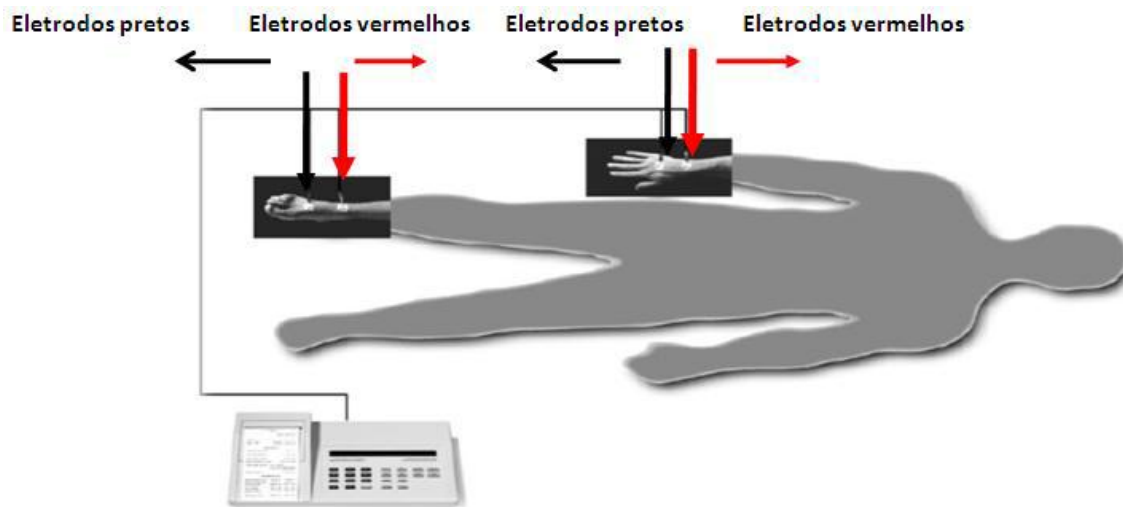


Figura 2 - Bioimpedância

#### 4.6 Índices para avaliação da resistência à insulina

- Índice do HOMA (62)

- $HOMA1-IR = (IJ \times GJ) / 405$ ; onde IJ corresponde à insulinemia de jejum em mU/L, e GJ, à glicemia de jejum em mg/dL.

#### 4.7 Dosagens bioquímicas

Todos os voluntários avaliados fizeram uma coleta de amostra de sangue após jejum noturno de 12 horas. Seguindo a coleta, o sangue foi centrifugado em numa velocidade de 1600g por 15 min. à temperatura de 4°C. Foram realizadas as seguintes dosagens de rotina:

- Glicemia de jejum (método glicose oxidase)
- HbA1c (método HPLC)

Para as demais dosagens foram coletadas amostras de soro e plasma as quais foram centrifugas, aliquotadas e armazenadas em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior dosagem no laboratório LIMED/UNICAMP. sendo elas:

- Insulina (quimioluminescência)
- Dipeptidil peptidase 4 (método ELISA)

O método ELISA foi utilizado em duplicatas e com curva padrão para maior controle e segurança do ensaio. O kit utilizado, DY1180 da R&D systems (DPP-4/CD26), é específico para humanos.

#### 4.8 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas no programa SPSS versão 18.0. Médias e desvio-padrão foram utilizados para descrição dos dados paramétricos e não paramétricos. Os dados categóricos foram apresentados em valores percentuais.

O teste de *Kolmogorov-Smirnov* foi utilizado para avaliar a normalidade da distribuição das variáveis estudadas. Dessa forma, testes não paramétricos foram empregados segundo a distribuição das variáveis na curva de normalidade. Para a comparação entre dois grupos independentes com distribuição normal, foi utilizado o teste-t de *Student*. Para a comparação entre dois grupos independentes sem distribuição normal foi utilizado o teste de *Mann-Whitney*. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para comparação entre três ou mais grupos independentes que apresentaram distribuição normal. Em situações em que houveram diferença estatística significativa, foi utilizado o teste *post-hoc* de *Tukey* de modo a identificar quais grupos diferem entre si. Para aqueles grupos que não apresentaram distribuição normal, foi empregado o teste de *Kruskal-Wallis* e o teste *post-hoc* de *Dunn's*. As correlações entre duas variáveis foram avaliadas pelos coeficientes de correlação de *Spearman* (não paramétrico) segundo as características das variáveis em estudo.

O nível de significância adotado como base para decisão foi inferior a 5% ( $p < 0,05$ ).

## 5.0 RESULTADOS

### 5.1 Caracterização dos grupos

	nOb-NG (N=62)	nOb-HG (N=31)	Ob-NG (N=57)	Ob-HG (N=77)
	Média e Desvio-Padrão			
Idade (anos)	40,6± 13,5	53,2± 8,9	39,2± 11,1	47,9± 10,9
Índice de Massa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	24,8± 2,7	26,9± 2,5	38,2± 6,9	36,3± 5,1
Circunferência da cintura (cm)	86,8± 7,5	95,1± 8,4	112,2± 13,7	113,1± 10,1
Circunferência do quadril (cm)	101,2± 6,1	99,6± 6,9	120,6± 12,8	117,1± 10,7
Circunferência da coxa (cm)	51,4± 4,3	49,8± 3,3	63,1± 8,8	58,5± 7,7
Relação cintura/quadril	0,86± 0,1	0,9± 0,1	0,91± 0,2	0,96± 0,1
Relação pescoço/coxa	0,66± 0,1	0,7± 0,7	0,63± 1,0	0,67± 0,1
Relação cintura/coxa	1,7± 0,2	1,9± 0,2	1,8± 0,3	1,9± 0,3
Peso da massa magra (kg)	43,7± 5,9	47,7± 7,4	58,6± 11,4	57,4± 11,4
HOMA-IR	1,2± 0,7	3,1± 2,6	3,5± 3,6	6,3± 4,7
Glicemia (mg/dl)	79,9± 10,6	122,0± 41,1	88,8± 10,8	149,9± 55,5
Hemoglobina glicada (%)	4,7± 0,7	6,7± 1,4	5,1± 0,5	7,6± 1,7
DPP4 (ng/ml)	354,7± 233,0	383,1± 250,9	361,0± 227,0	460,6± 214,7

Tabela1. Características clínicas, antropométricas e metabólicas dos indivíduos, segundo os grupos de estudo.



## 5.2 Caracterização da amostra

	Mulheres	Homens	
	Média e Desvio-Padrão		p
Idade (anos)	44,4 ± 12,3	43,7± 11,4	NS
Índice de Massa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	31,3 ± 7,1	32,5± 6,5	NS
Circunferência da cintura (cm)	100,0± 13,2	107,5± 15,8	< 0,001
Circunferência do quadril (cm)	109,5± 12,6	111,4± 12,3	NS
Circunferência da coxa (cm)	55,5± 8,1	56,8± 7,1	NS
Relação cintura/quadril	0,9± 0,1	0,9± 0,1	< 0,001
Relação pescoço/coxa	0,6± 0,1	0,6± 0,1	< 0,05
Relação cintura/coxa	1,8± 0,2	1,9± 0,3	< 0,001
Peso da massa magra (kg)	47,9± 8,8	56,1± 12,3	< 0,001
HOMA-IR	3,9± 4,5	4,1± 3,9	NS
Glicemia (mg/dl)	105,8± 46,7	126,4± 53,1	< 0,001
Hemoglobina glicada (%)	5,9± 1,8	6,5± 2,0	NS
DPP4 (ng/ml)	297,4± 168,1	576,4± 215,2	< 0,001

Tabela 2. Características clínicas, antropométricas e metabólicas dos indivíduos, segundo o gênero. Dados não significantes NS; dados significantes para  $p < 0,05$

## 5.3 Avaliação da concentração da DPP-4 entre grupos de não Obesos normoglicêmicos, não Obesos hiperglicêmicos, Obesos normoglicêmicos e Obesos hiperglicêmicos

Observamos um aumento na concentração da DPP-4 no grupo de Ob-HG, comparado à outros três grupos (nOb-NG, NOb-HG e Ob-NG) (Graf.1). Ao comparar os grupos dois a dois, somente houve diferença significativa entre os grupos Ob-NG, NOb-NG e Ob-HG (Quadro1).

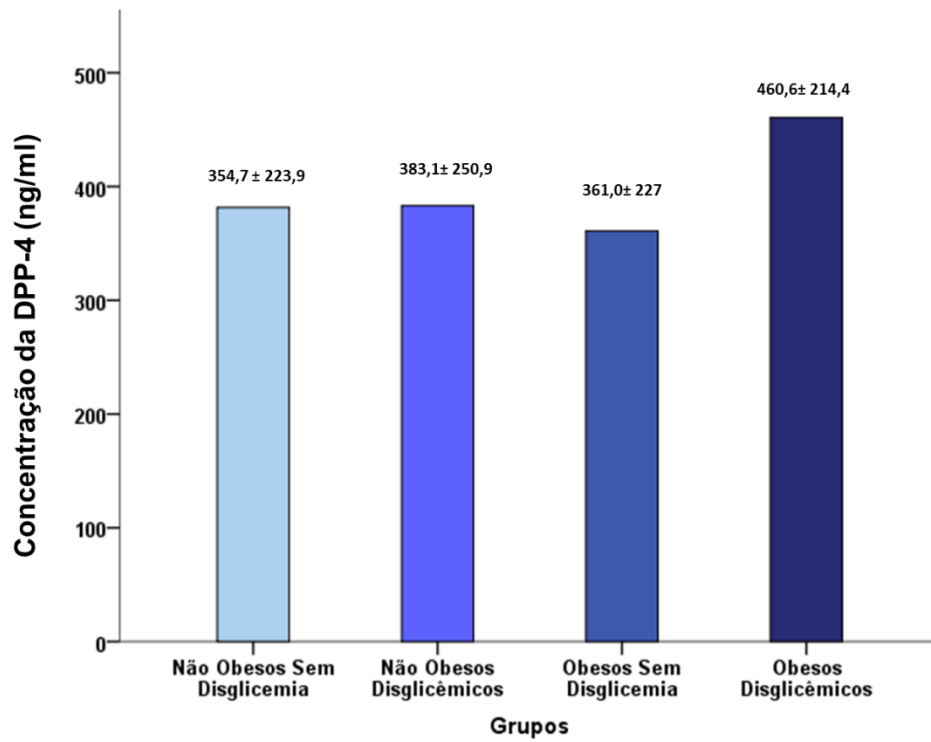


Gráfico1. Concentração da DPP-4 nos grupos NOb-NG, NOb-HG, Ob-NG e Ob-HG.

<b>Comparação entre subgrupos de acordo com presença de Obesidade e / ou Disglicemia</b> Dados apresentados como Média± Desvio Padrão			
	Normoglicêmicos		Hiperglicêmicos
Não-obesos	354,7±223	p = NS	383,1±250,9
	p = NS	n=62	n=31
Obesos	361,0±227	p < 0,05	460,6±214,7
	n=56		n=77

Quadro 2. Comparação entre subgrupos estudados de acordo com presença de Obesidade e /ou Disglicemia. NS= Não significativa e significativa  $p < 0,05$ .

#### 5.4 Correlações com a concentração da DPP-4 e a hiperglicemia constante

Houve correlação positiva entre a concentração da DPP-4 e HbA1c, nos grupos Não Obesos, Obesos, Normoglicêmicos e hiperglicêmicos (Tab.3)

<b>Correlações com a [DPP4]</b>				
	<b>Não-obesos</b>		<b>Obesos</b>	
	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>
<b>Glicemia (mg/dl)</b>	0,191	0,067	0,196	0,024
<b>HOMA-IR</b>	-0,144	0,169	0,071	0,414
<b>Hemoglobina Glicada (%)</b>	-0,07	0,524	0,29	0,001*

	<b>Normoglicêmicos</b>		<b>Hiperglicêmicos</b>	
	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>
<b>Glicemia (mg/dl)</b>	0,243	0,008 *	0,167	0,084
<b>HOMA-IR</b>	-0,122	0,187	0,024	0,808
<b>Hemoglobina Glicada (%)</b>	-0,096	0,524	0,194	0,047 *

Tabela 3. Correlações da concentração da DPP-4 vs. Glicemia, HOMA-IR e Hemoglobina Glicada nos grupos: Não Obesos, Obesos, normoglicêmicos e Hiperglicêmicos. \* $p < 0,05$

### 5.5 Correlações da concentração da DPP-4 vs. dados antropométricos realizados em homens e Mulheres

Entre as mulheres, a concentração de DPP-4 teve correlação negativa ( $p < 0,05$ ) com a circunferência do quadril (Gráf. 2) e a circunferência da coxa em mulheres (Gráf. 3); correlação positiva ( $p < 0,05$ ) com as razões pescoço/coxa (Gráf. 4) e cintura/coxa (Gráf. 5).

Entre os homens a concentração da DPP-4 teve correlação negativa com a massa magra. Outras correlações com circunferência da coxa, circunferência do quadril, pescoço coxa e cintura coxa, não tiveram significância estatística.

**Correlações da [DPP4] com a Circunferência do Quadril em Mulheres**

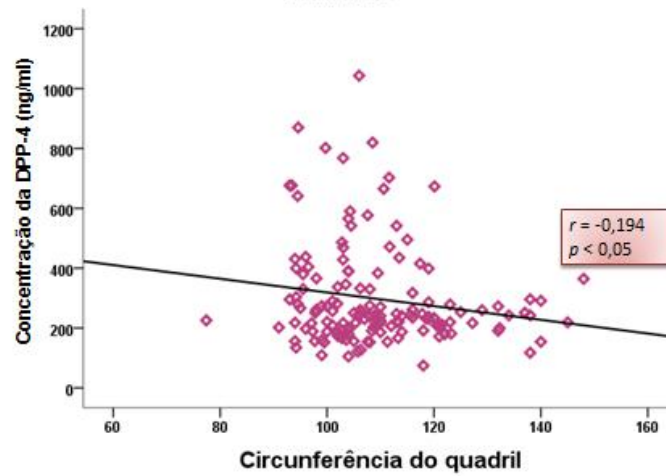


Gráfico 2. Dados significativos  $p < 0,05$

**Correlações da [DPP4] com a Circunferência da Coxa em Mulheres**

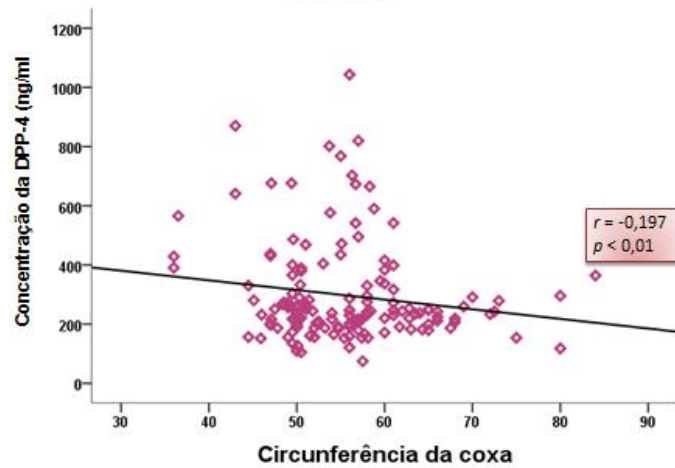


Gráfico 3. Dados significativos  $p < 0,05$

**Correlações da [DPP4] com a Relação Pescoço/coxa em Mulheres**

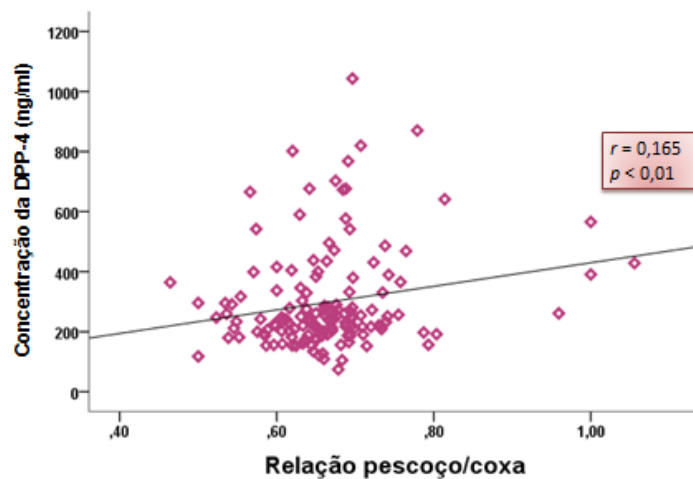


Gráfico 4. Dados significativos  $p < 0,05$

**Correlação da [DPP4] com a Relação Cintura/Coxa em Mulheres**

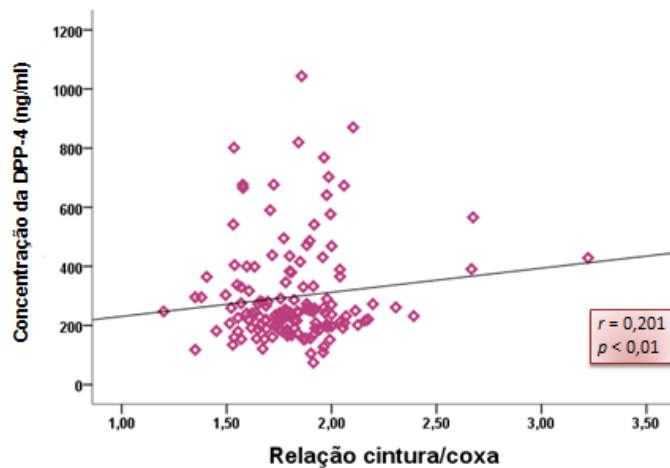


Gráfico 5. Dados significativos  $p < 0,05$

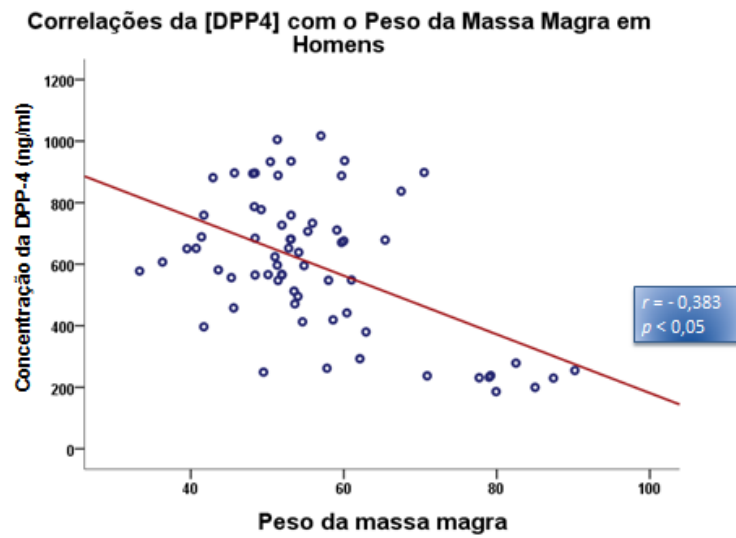


Gráfico 6. Dados significativos  $p < 0,05$

## 6.0 DISCUSSÃO

Os mecanismos pelos quais a adiposidade centrípeta e a hiperglicemia aumentam a concentração plasmática de DPP-4 não estão claros. Este aumento parece constituir-se na base fisiopatológica (61) do tratamento do DM2, baseado na inibição da DPP-4, especialmente, com adiposidade centrípeta.

O aumento da concentração DPP-4 observado no grupo de Ob-HG, comparado aos outros três grupos (nOb-NG, nOb-HG e Ob-NG) (Graf.1), parece correlacionar-se diretamente com obesidade e a hiperglicemia dos pacientes.

Quando buscamos correlacionar a concentração da DPP-4 com a circunferência do quadril (graf.2) e circunferência da coxa em mulheres (Graf.3), que quando aumentados exercem uma ação protetora contra a RI, encontramos resultados estatisticamente significativos ( $p<0,05$ ): a concentração da DPP-4 está diminuída com o aumento da circunferência do quadril e a circunferência da coxa em mulheres.

As razões pescoço/coxa (gráf.4) e cintura/coxa (Gráf.5) que indicam a distribuição centrípeta ou troncular da gordura corporal estiveram aumentadas diretamente proporcionais aos aumentos da concentração da DPP-4. Nossos achados mostram um aumento da concentração da DPP-4 acompanhado do aumento destes índices, favorecendo a formulação da hipótese de que haja uma associação entre a distribuição centrípeta do tecido adiposo abdominal em mulheres e o aumento da concentração da DPP-4.

A massa magra em homens (graf.6) esteve inversamente correlacionada a concentração da DPP-4, sugerindo um fator de proteção deste tecido sobre a



concentração da DPP-4 através de mecanismos de comunicação inter-tecidual atualmente desconhecidos.

## **7.0 CONCLUSÃO**

Pacientes obesos e com hiperglicemia apresentam a concentração da DPP-4 elevada, quando comparados com indivíduos normoglicêmicos magros ou obesos.

Existe uma associação entre a distribuição centrípeta do tecido adiposo e o aumento da concentração da DPP-4, cuja causalidade não está caracterizada até o presente momento.

Nosso trabalho fornece bases fisiopatológicas para o tratamento do DM2 baseado na inibição da DPP-4 corroborando com os achados clínicos em ensaios randomizados e na prática clínica. De fato, as terapias baseadas em incretinas, em destaque para a inibição da DPP-4, tem se mostrado efetivas no tratamento do DM2.

## 8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. WHO Global WHO Global Infobase: data on overweight and obesity, mean BMI, Healthy diets and physical inactivity. WHO: 2011.
2. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares. Rio de Janeiro: IBGE: 2008-2009.
3. Monteiro CA, Mondini L, Sousa ALM, Popkin BM. Da desnutrição para a obesidade: a transição nutricional no Brasil. In: Monteiro CA, Velhos e novos males da saúde no Brasil. 2ª ed. São Paulo: Editora Hucitec; 2000: 247-55.
4. Mancini MC, Angelucci AP. Fisiopatologia da obesidade e da ciclicidade do peso. In: Mancini MC (org). Tratado de Obesidade. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010: 43-54.
5. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL. Prevalence and trends in obesity among USA adults, 1999-2000. JAMA. 2002; 288: 1723-7.
6. Coutinho W. Consenso Latino-Americano de Obesidade mórbida. Arq Bras Endocrinol Metab. 1999;43: 2167.
7. Lima Junior SE. Manual de orientação do paciente: Obesidade Mórbida São Paulo: Hospital do Mondaqui; 1995.
8. Drenick EJ, Bale GS, Seltzer F, Johnson DG. Excessive mortality and causes of death in morbidly obese men. JAMA. 1980; 243: 443-5.
9. Mlinar A, Schmelzer M, Daniels G. Are your measurements reliabli? Gastroenterol Nurs. 2007 Sep-Oct;30(5):382-4
10. De Fronzo RA, Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. Med Clin North Am . 2004; 88: 787-835.
11. Eckel RH, Khan SE, Ferranini E, Goldfine AB, Nathan DM, Schwartz MW et al. Obesity and type 2 Diabetes: What can be unified and what needs to be individualized. J Clin Endocrinol Metab. 2011; 96: 1654-63.

12. Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Solomon CG, et al. Diet, lifestyle, and risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med* 2001;345:790-7.
13. Vague, J. Sexual differentiation. A determinant factor of the forms of obesity. 1947. *Obesity Research*. 1996;4(2):201-3.
14. Guedes DP. Recursos antropométricos para análise da composição corporal. *Revista Brasileira de Educação Física e Esporte*. 2006; 20:115-9.
15. Ho SY, Lam TH, Janus ED. Waist to stature ratio is more strongly associated with cardiovascular risk factors than other simple anthropometric indices. *Ann Epidemiol*. 2003;13:683-91.
16. Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circulation Res*. 2005;96(9):939-49.
17. Reaven GM. Insulin resistance, the insulin resistance syndrome, and cardiovascular disease. *Panminerva Med*. 2005;47(4):201-10.
18. Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC. Adipokines and insulin resistance. *Mol Med*. 2008;14(11-12):741-51.
19. Lee JM, Kim SR, Yoo SJ, Hong OK, Son HS, Chang SA. The relationship between adipokines, metabolic parameters and insulin resistance in patients with metabolic syndrome and type 2 diabetes. *J Int Med Res*. 2009;37(6):1803-12.
20. Sibai AM, Hwalla N, Adra N, Rahal B. Prevalence and Covariates of Obesity in Lebanon: Findings from the First Epidemiological Study. *Obesity Research* 2003;11:1353-61.
21. Velloso LA, Pitombo C, Araujo EP, De Souza CT, Pareja JC, Geloneze B. Amelioration of diet-induced diabetes mellitus by removal of visceral fat. *J Endocrinol* . 2006 Dec; 191 (3): 699-706.
22. Ford ES, Kohl III HW, Mokdad AH, Ajani UA. Sedentary Behavior, Physical Activity, and the Metabolic Syndrome among U.S. Adults. *Obes Res*. 2005;13(3):608-14.

23. Brien SE, Katzmarzyk PT. Physical activity and the metabolic syndrome in Canada. *Appl. Physiol. Nutr. Metab* 2006;31:40-7.
24. Méndez-Hernández P, Flores Y, Siani C, Lamure M, Dosamantes-Carrasco LD, Halley-Castillo E, et al. Physical activity and risk of Metabolic Syndrome in an urban Mexican cohort. *BMC Public Health* 2009; 9:276.
25. Spiegel K, Knutson K, Leproult R, Tasali E, Van Cauter E. Sleep loss: a novel risk factor for insulin resistance and Type 2 diabetes. *J Appl Physiol.* 2005; 99: 2008-19.
26. Knutson KL, Spiegel K, Penev P, Van Cauter E. The metabolic consequences of sleep deprivation. *Sleep Med Rev* 2007a; 11:163-78.
27. John R. Ussher, Daniel J. Drucker. Cardiovascular Biology of the Incretin System: *Endocrine Reviews*, April 2012, 33(2):0000–0000.
28. Kim W, Egan JM. The Role of Incretins in Glucose Homeostasis and Diabetes Treatment. *Pharmacol Rev* 60:470–512, 2008.
29. Dupre J, Ross SA, Watson D, Brown JC 1973 Stimulation of insulin secretion by gastric inhibitory polypeptide in man. *J Clin Endocrinol Metab.*37:826–828
30. Pederson RA, Schubert HE, and Brown JC (1975) Gastric inhibitory polypeptide. Its physiologic release and insulinotropic action in the dog. *Diabetes* 24:1050-1056.
31. Elliott RM, Morgan LM, Tredger JA, Deacon S, Wright J, Marks V. Glucagon-like peptide-1(7-36)amide and glucose-dependent insulinotropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in man: Acute post-prandial and 24-h secretion patterns. *J Endocrinol* 1993;138:159–166.
32. Ross SA and Dupre J (1978) Effects of ingestion of triglyceride or galactose on secretion of gastric inhibitory polypeptide and on responses to intravenous glucose in normal and diabetic subjects. *Diabetes* 27:327-333.
33. Ross SA, Brown JC, Dupre J. Hypersecretion of gastric inhibitory polypeptide following oral glucose in diabetes mellitus. *Diabetes* 1977;26:525-529.

34. Lynn, F. C.; Pamir, N.; Ng, E.H.; McIntosh, C.H.; Kieffer, T.J.; and Pederson, R.A. (2001). Defective glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor expression in diabetic fatty Zucker rats. *Diabetes* 50, 1004–1011.
35. Huda M.S.; Wilding J.P.; Pinkney J.H. Gut peptides and the regulation of appetite. *Obes Rev* 2006;7:163-82.
36. Le Roux C.W.; Aylwin S.J.; Batterham R. L.; , Borg C.M.; Coyle F.; Prasad V.; Shurey S.; Ghatei M.A.; Patel A.G.; Bloom S.R. Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. *Annals of Surgery* 2006;243:108-14.
37. Suzuki S.; Ramos E.J.; Goncalves C.G.; Chen C.; Meguid M.M. Changes in GI hormones and their effect on gastric emptying and transit times after Roux-en-Y gastric bypass in rat model. *Surgery* 2005;138:283-90.
38. Rask E.; Olsson T.; Soderberg S.; Johnson O.; Seckl J.; Holst J. J.; et al. Impaired incretin response after a mixed meal is associated with insulin resistance in nondiabetic men. *Diabetes Care* 2001;24:1640-1645.
39. Vilsboll T.; Krarup T.; Deacon C. F.; Madsbad S.; Holst J. J. et al. Reduced post-prandial concentrations of intact biologically active glucagons-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2001;50:609-613
40. Vilsboll T.; Krarup T.; Sonne J.; Madsbad S.; Volund A.; Juul A. G. et al. Incretin secretion in relation to meal size and body weight in healthy subjects and people with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88: 2706-2713.
41. Nathan D. M.; Schreiber E.; Fogel H.; Mojsov S.; Habner J. F. Insulinotropic action of glucagons-like peptide 1 (7-37) in diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care* 1992;15:270-276
42. Holz, G. G. (2004). Epac: A new cAMP-binding protein in support of glucagonlike peptide-1 receptor-mediated signal transduction in the pancreatic betacell. *Diabetes* 53, 5–13.

43. Ahrén B, Schmitz O. GLP-1 receptor agonists and DPP-IV inhibitors in the treatment of type 2 diabetes. *Horm Metab Res.* 2004 Nov-Dec; 36 (11-12): 867-76.
44. Augustyns K et al. The unique properties of Dipeptidil-peptidase IV (DPP-IV/CD 26) and the therapeutic potential of DPP-IV inhibitors. *Current Medicinal Chemistry*, 1999, 6, 311-327.
45. Ahren B. Dipeptidil Peptidase-4 Inhibitors: Clinical data and clinical implications. *Diabetes Care*, 2007. Vol 30, n. 6 Jun, 1344-1350.
46. Pacheco R, C. Lluís, R. Franco Role of CD26-adenosine deaminase interaction in Tcell-mediated immunity. Vol. 24 / Núm 2/ Abril-Junio 2005: 235-245
47. Durinx C et al., Molecular characterization of Dipeptidil peptidase activity in serum *Eur. J. Biochem.* 267, 5608±5613 (2000).
48. Willheim M, Ebner C, Baier K, Kern W, Schrottbauer K, Thien R et al. Cell surface characterization of the lymphocytes and allergenspecific the cellclones: correlation of CD26 expression with T (H1) subsets. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:348-355.
49. Lugari R et al. Glucagon like peptide (GLP1) secretion and plasma Dipeptidil peptidase IV (DPPIV) activity in morbidly obese patients undergoing biliopancreatic diversion. *Horm. Metab.* 2004;36:111-115.
50. Pala L, Mannucci E, Pezzatini A et al. Dipeptidil peptidase-IV expression and activity in human glomerular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;310:28–31
51. Pala L, Ciani S, Dicembrini I, Bardini G, Cresci B, Pezzatini A, Giannini S, Mannucci E, C. Rotella CM. Relationship between GLP-1 levels and Dipeptidil peptidase-4 activity in different glucose tolerance conditions. 1464-5491.2010.03010.x
52. Ryskjær J, Deacon CF, Carr RD, Krarup T, Madsbad S, Holst J, Vilsboll T. Plasma dipeptidyl peptidase-IV activity in patients with type-2 diabetes

- mellitus correlates positively with HbA1c levels, but is not acutely affected by food intake. *European Journal of Endocrinology* (2006) 155 485–493
53. Luft L, Schimdt MI, Duncan BB et al. Dipeptidil peptidase IV and incident Diabetes. *Diabetes Care* 33:1109-1111, 2010
54. Madsbad S. Dipeptidil peptidase IV (DPP-IV) inhibitors are favourable to glucagon like peptide-1 (GLP-1) agonists: No. *European Journal of Internal Medicine* 23 (2012) 132–136.
55. Jelliffe DB. Evaluación del estado nutrición de la comunidad. Ginebra: Organización Mundial de La Salud, 1968:166.
56. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894. Geneva: World Health Organization, 2000.
57. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. Champaign: Human Kinetics Pub, 1988.
58. Sampaio LR, Simoes EJ, Assis AM et al. Validity and reliability of the sagittal abdominal diameter as a predictor of visceral abdominal fat. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007,51(6): 980-6.
59. Lukaski HC, Bolonchuk WW, Hall CB, Siders WA. Validation of tetrapolar bioelectrical impedance method to assess human body composition. *J Appl Physiol* 1986;60:1327-32.